

造血幹細胞移植を受けたムコ多糖症患者の長期予後調査

研究分担者 加藤 俊一（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・教授）

研究協力者 奥山 虎之（国立成育医療センター臨床検査部・部長）

田中あけみ（大阪市立大学医学部小児科・准教授）

酒井 規夫（大阪大学医学部小児科・准教授）

鈴木 康之（岐阜大学医学部医学教育開発研究センター・教授）

大橋 十也（東京慈恵会医科大学・DNA 研究所・教授）

矢部 普正（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・准教授）

高倉 広充（東海大学医学部専門診療学系小児科学・助教）

研究要旨

造血細胞移植はムコ多糖症に対する根治的治療法として 1990 年代から実施されてきたが、2000 年代になり酵素補充療法が開発され、両者の効果を同一の評価方法で比較した結果に基づいて治療方法の選択や併用を考慮することが必要となっている。

本研究班においては、初年度にわが国において 1990～2007 年の間に造血幹細胞移植が実施され、1年以上長期生存中のムコ多糖症Ⅱ型患者における臨床効果について後方視的な検討を開始し、2年度目には後方視的検討をさらに継続しつつ、酵素補充療法と造血細胞移植を同一の評価方法で前方視的に比較検討するための治療効果評価ガイドライン試案の作成に着手した。3年度目にあたる本年度においては、後方視的研究の完成と治療効果評価ガイドラインの最終案をとりまとめた。

検討されるべき評価項目は以下のようにまとめられ、治療開始前、開始後6ヵ月毎の評価が望ましいと考えられる。

1. 一般外表所見（身長、体重、皮膚、顔貌）
2. 中枢神経系（頭部 MRI、ADL、IQ/DQ）
3. 骨・関節（骨レントゲン、関節可動域）
4. 運動機能（6分間歩行テスト）
5. 呼吸機能（%FVC、睡眠時無呼吸指数）
6. 心機能（心電図、心エコー、NHA 分類）
7. 腹部臓器（肝臓、脾臓の容量）
8. 耳鼻科的異常（聴力）
9. 眼科的異常（角膜混濁、視力）
10. 一般血液所見
11. 酵素活性
12. 尿中ウロン酸

A. 研究目的

造血細胞移植はムコ多糖症などのライソゾーム蓄

積病に対しても根治療法として実施されているが、疾患毎あるいは症例毎に治療効果が異なっている。

本研究ではわが国のムコ多糖症の中で最も多数を占めるⅡ型のハンター病に対する造血細胞移植の治療効果について詳細な検討を行い、今後のフォローアップ体制の確立の一助とすることを研究目的とした。

B. 研究方法

1. 2次アンケート調査の解析

日本小児血液学会の造血細胞移植登録に登録されたムコ多糖症Ⅱ型患者について初年度と2年度目を実施した2次アンケート調査の解析結果を基に、評価項目毎に問題点を検討した。

2. 臓器機能評価の検討

先天性代謝異常疾患の専門家と2次アンケート調査に回答した施設の主治医が参加する検討会において臓器別、症例毎に詳細な検討を行った。

3. 倫理面への配慮

本研究は国の定める疫学調査に該当することから、「疫学研究に関する倫理指針」（平成14年6月制定、平成19年11月改正）に則り、各施設の倫理審査委員会の承認をえた上で、連結可能匿名化されたデータについて解析を行った。

C. 研究結果

2年度目に作成した試案を基に、造血細胞移植後の患者と酵素補充療法患者を比較した結果、試案の有用性と妥当性が確認されたことから、このガイドラインを本研究班としての最終案とすることとした。

評価の頻度については、治療開始前と開始後は6ヵ月毎に継続的に行うべきである。

1. 一般計測と外表所見（身長、体重、皮膚、顔貌）

- ・造血細胞移植、酵素補充療法ともに治療後に catch-up が認められることから、身長、体重、可能であれば座高、四肢長などを定期的に計測する。
- ・皮膚の硬度、顔貌などの変化について写真撮影などを活用しながら記録する。
- ・造血細胞移植による GVHD などの皮膚病変の有無についても観察する。

2. 中枢神経系（頭部 MRI、ADL、IQ/DQ）

- ・血管周囲の cribriform 所見、脳室拡大や脳萎縮の有無などを頭部 MRI にて評価する。その際、本研究

班で用いられた田中スコアを用いることが望ましい。

- ・ADL については FIM (functional independence measure) を用いて保護者による評価を行うことが望ましい。
 - ・年齢に応じて IQ や DQ を正確に評価する体制が必要である。
- ### 3. 骨・関節（骨レントゲン、関節可動域）
- ・骨レントゲンにより骨格や骨粗大病変の評価を行い、関節可動域については少なくとも大関節の評価を行う。手指などの小関節については可動域の正確な測定は困難なことが多いため、日常動作（鉛筆、箸、スプーンなどの操作、ボタンの着脱など）による評価を参考にする。
 - ・造血細胞移植後の GVHD による関節拘縮の有無についても評価を行う。
- ### 4. 運動機能（6分間歩行テスト）
- ・6分間歩行テストが国際的にも標準化されていることから、運動機能の指標として採用する必要がある。
- ### 5. 呼吸機能（%FVC、睡眠時無呼吸指数）
- ・就学前の患児における呼吸機能の正確な評価は困難であるが、検査が可能な患児においては %FVC を測定する。
 - ・睡眠時無呼吸指数は呼吸機能を反映するものとして用いることができる。
- ### 6. 心機能（心エコー、心電図、NHA 分類）
- ・心エコーにより左室駆出率 (EF)、心室壁の肥厚度、弁の閉鎖不全や逆流の評価を行う。心電図は補助的検査となり、心機能の総合的評価は NHA 分類により行う。
- ### 7. 腹部臓器（CT またはエコー：肝臓、脾臓の容量）
- ・肝脾腫などの腹部臓器の評価は CT 検査にて行うが、腹部エコーにても十分評価可能である。
- ### 8. 耳鼻科的異常（聴力）
- ・耳鼻科専門医により、患児の年齢に応じて聴力の評価を行う。また、中耳炎などの感染症の罹患頻度なども評価対象とする。
- ### 9. 眼科的異常（角膜混濁、視力）
- ・眼科専門医により、角膜の混濁や視力の評価を行

う。

・造血細胞移植の前処置として眼部に放射線照射を受けている症例では、白内障の有無についての評価も必要である。

10. 一般血液所見

・造血細胞移植後1年間は造血能や免疫能の回復や一般生化学検査などが主体となる。
・1年以降は造血能、免疫能、臓器機能などを総合的に評価する。

11. 酵素活性

・酵素活性についてはリンパ球などを用いて定期的に評価する。STR(short tandem repeat)などを用いてドナーキメラリズムを確認することも必要である。

12. 尿中ウロン酸

・尿中ウロン酸の総量と組成について評価する。

D. 考察

ムコ多糖症 I 型(Hurler 病)においては造血細胞移植の効果が確認されているが、II 型(Hunter 病)における治療効果について統一した見解がえられていなかった。MPS II 型は日本などアジア人に多い病型であることから、わが国では造血細胞移植の実施例が多く、重症例で早期に移植を行えば中枢神経系を含めて一定の効果が期待できることが本研究班などの調査により判明しつつある。

一方、2000 年代後半から臨床応用が開始された酵素補充療法は中枢神経系以外の臓器に対しては効果が認められるものの、定期的な外来受診と点滴ルートの確保など生涯にわたる治療の継続が必要なため、造血細胞移植は今後も必要とする専門家が多い。

今後2つの治療法の評価を前方視的に行うことにより、科学的に正確な比較が可能になると思われる。現在酵素補充療法の治験期間中と市販後調査で用いられている評価方法と評価時期を造血細胞移植にも適用することにより両者を同一基準で比較できると考えている。

E. 結論

昨年度から継続しているムコ多糖症 II 型における造

血細胞移植の効果に関する後方視的研究の結果、今後前方視的に評価すべき項目と評価頻度に関するガイドラインを完成させた。

F. 健康危険情報

本研究は後ろ向きの疫学調査であるため、本研究による健康被害はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yabe H, Yabe M, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, **Kato S**. Rapid improvement of life-threatening capillary leak syndrome after stem cell transplantation by bevacizumab. **Blood**. 2010 Apr 1;115(13):2723-4.
- 2) Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, **Kato S**, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. **Blood**. 2010 Aug 26; 116(8):1369-76. May 17. [Epub ahead of print]
- 3) Tomita Y, Yasuda Y, Hyodo H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kojima S, Minemura T, **Kato S**. High incidence of fatty liver and insulin resistance in long-term adult survivors of childhood stem cell transplant. **Bone Marrow Transplant**. 2010 Jun 21 [Epub ahead of print]
- 4) Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K, Kodo H, Kai S, Sato H, Kohsaki M, Azuma H, Tanaka H, Ogawa A, Nakajima K, **Kato S**. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. **Blood**. 2010 Oct 14;116(15):2839-46. Jul 13. [Epub ahead of print]
- 5) Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Arakawa S, **Kato S**, Yabe H. Therapy-related myelodysplastic syndrome of recipient origin in a juvenile myelomonocytic leukemia patient 17 years after allogeneic BMT. **Bone Marrow Transplant**. 2010 Sep 27. [Epub ahead of print]
- 6) Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Sukanuma E, Sugiyama N, **Kato S**, Yabe H. Alternative donor marrow transplantation in children with aplastic anemia using low-dose irradiation and fludarabine-based conditioning. **Bone Marrow Transplant**. 2010 Oct 18. [Epub ahead of print]
- 7) 渡辺修大、足立壮一、堀部敬三、永利義久、加藤剛二、田淵 健、吉見礼美、加藤俊一、矢部普正. 日本小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG) SCT 委員会 小児急性骨髄性白血病第一寛解期での HLA 一致同胞間骨髄移植における GVHD 予防 (MTX 単独 vs. CyA 群) の比較 日本小児血液学会雑誌 2010;24(1): 32-36.
- 8) 加藤俊一. ライソゾーム病の治療. 1) 造血細胞移植. 血液フロンティア 2010;20(4):565-573.

- 9) 加藤俊一. ライソゾーム病の治療. 造血細胞移植. 小児科診療 2011 (印刷中).
2. 著書
 - 1) 加藤俊一. よくわかる造血細胞移植コーディネーター. 医薬ジャーナル社 2010 pp1-2 (編集)
 - 2) 加藤俊一. よくわかる小児の造血細胞移植 医薬ジャーナル社 2010 (監修および共著)
 - 3) 加藤俊一. ムコ多糖症に対する造血幹細胞移植の現状と課題 (骨髄、臍帯血、末梢血). 「ムコ多糖症 UPDATE」. イーエヌメディックス社 2011 (印刷中).
3. 学会発表
 - 1) Kamiya S, Yonezawa H, Woo T, Kurata S, Zaman C, Hanawa T, Kato S, Osaki T. Biofilm formation by *Helicobacter pylori* and its pathogenesis. 33rd International Congress on Microbial Ecology and Disease. Sep. 6-10, 2010, Athen, Greece.
 - 2) Kato S. Cord blood banking and cord blood transplantation in children in Japan. 22nd International Congress of Pediatrics. Oct.14-18, 2010, Tehran, Iran.
 - 3) Koike T, Yanagimachi N, Yabe H, Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Ishiguro H, Takakura H, Kato S. High incidence of radiation induced cavernous hemangioma in long term survivors who underwent BMT with radiation therapy during childhood or adolescence. 2011 BMT Tandem Meeting. Feb. 17-21, 2011, Honolulu, USA.
 - 4) Koike T, Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for Fanconi anemia. 22nd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oct. 2010, USA.
 - 5) Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Long-term follow-up after unrelated bone marrow transplantation in a patient with dyskeratosis congenita. 22nd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oct. 2010, USA.
 - 6) Yabe H, Yabe M, Kato S, Koike T, Takakura H, Hyodo H, Tomita Y, Ishiguro H, Shimizu T, Morimoto T and Akiba T. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. 第 72 回日本血液学会総会 2010 年 9 月、横浜.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

ムコ多糖症に対する同種造血細胞移植治療の標準化と長期フォローアップ体制の確立

研究分担者 矢部 普正 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 准教授

研究要旨

造血能および免疫能が正常なムコ多糖症に対する同種造血細胞移植は、生着不全の頻度が高いことが知られているが、われわれはブスルファンとシクロフォスファミドとの組み合わせを中心に、高率に安定した生着を得られる前処置を開発した。さらに、本前処置施行例で合併頻度が高いとされる肝中心静脈閉塞症を予防するために、投与順序を逆転させた前処置も開発した。今後は心臓合併症などで全身状態が悪い症例でも移植が可能な強度減弱前処置を確立し、長期フォローアップ体制を整備して移植後の生活の質の評価を行う予定である。

共同研究者

高倉 広充 東海大学医学部専門診療学系 助教
矢部みはる 東海大学医学部基盤診療学系 准教授
加藤 俊一 東海大学医学部基盤診療学系 教授

A. 研究目的

近年、ムコ多糖症に対する治療として、酵素補充療法が登場したが、生涯の点滴投与を行う必要があることや、医療コストが高額になることから、持続的酵素補充療法としての治療効果がある同種造血細胞移植が見直されている。また、静脈内投与された酵素は血液脳関門を通過しないが、造血細胞移植では酵素活性をもつ細胞の中樞神経系への遊走や、ミクログリア細胞への分化などによる中樞神経病変の改善を期待できる可能性がある。

一方、同種造血細胞移植はリスクを伴う治療であり、またムコ多糖症などの代謝疾患では生着不全の頻度が高いことが問題とされてきたが、近年の移植技術の進歩によって HLA 一致同胞以外のドナーからの移植においても成功率は格段に向上した。

本研究では移植の安全性をさらに向上させるために、病期や併存する合併症に対応した標準的移植法を提示し、移植後の生活の質の評価として、代謝や神経の専門を含む多面的かつ長期的な経過観察によって、治療の評価を行うことを目的とする。

B. 研究方法

ムコ多糖症に対する同種造血細胞移植の前処置として、全身状態良好例では大量ブスルファン (Bu) とシクロフォスファミド (CY) を中心とした前処置を行い、心臓弁膜症などで骨髄破壊の前処置が不可能な例ではフルダラビン (Flu) とメルファラン (L-PAM) を中心とした骨髄非破壊前処置を行う。Bu は経口投与で $150\sim 160\text{ mg/m}^2/\text{day} \times 4$ 日間を、CY $50\text{ mg/kg} \times 4$ 日間と併用することで、良好な成績を得られることが従来の解析で明らかにされたが、より血中濃度の安定しやすい静注用ブスルファン (Busulfex) の開発により、静注用製剤への変更を行う必要が生じた。Busulfex の投与量は国内外の臨床試験を参考に、能書に基づいた体重別の投与量とした。また、致命率の高い合併症である肝中心静脈閉塞症 (肝 VOD) の合併が少ないと海外から報告された reversed CY-Bu 前処置についても、スイスの研究者と直接情報交換し、詳細な投与方法を確認の上で、HLA 一致同胞間移植の 1 例で試みた。

(倫理面への配慮)

移植の説明および生着確認お STR 法の説明は患者両親へ文書を用いて行い、文書による同意を得た。

C. 研究結果

症例 1: 7 歳、男児。ムコ多糖症 II 型 (Hunter 症候群) で、HLA 一致の弟より同種骨髄移植を施行した。前処置は通常の投与順の Bu + CY にさらに拒絶予防として抗胸腺細胞グロブリン (サイモグロブリン) を

併用し、GVHD 予防はシクロスポリン（CyA）単独で行った。患者体重は 32kg、ドナー体重は 12.6 kg であり、体重差は 2.5 倍であったが、採取骨髄液量 275ml、移植有核細胞数 $1.57 \times 10^8/\text{kg}$ 、移植 CD34 陽性細胞数 $4.25 \times 10^6/\text{kg}$ で、+13 日には好中球 $500/\mu\text{L}$ を超え、順調な造血能の回復を得ることができた。生着は骨髄および末梢血の short-tandem repeat (STR)法で行い、100%ドナータイプを確認した。移植後は車イス生活から歩行可能となり、記憶力の改善など QOL の向上が得られている。

症例 2：5 歳、男児。ムコ多糖症 II 型（Hunter 症候群）で、HLA 一致の妹より同種骨髄移植を施行した。前処置は reversed CY + Bu にさらに拒絶予防として抗胸腺細胞グロブリン（サイモグロブリン）を併用し、GVHD 予防は CyA 単独で行った。患者体重は 27.5kg、ドナー体重は 15.6 kg であり、体重差は 1.8 倍であったが、採取骨髄液量 297ml、移植有核細胞数 $2.41 \times 10^8/\text{kg}$ 、移植 CD34 陽性細胞数 $10.3 \times 10^6/\text{kg}$ で、+18 日には好中球 $500/\mu\text{L}$ を超え、順調な造血能の回復を得ることができた。生着は骨髄および末梢血の STR 法で行い、移植後早期は本人由来の成熟 T 細胞に混合キメラを認めたものの、以後順調にドナー細胞が増加し、移植後 6 ヶ月では 100%ドナータイプに転換した。移植後は酵素補充療法よりも関節可動域の拡大が得られ、言語発達など中枢神経系にも新たな改善傾向が認められている。

D. 考察

Bu は従来経口剤が用いられ、経口投与での前処置法が確立されたが、2006 年より静注製剤が承認されたため、新たに静注製剤での用量設定を確認する必要が生じた。ヨーロッパでの静注用 Bu を用いた臨床研究では、経口剤よりも肝 VOD の合併が多いと指摘された。代謝異常では先行する化学療法がないために、肝 VOD の頻度が低くなる可能性がある一方、年齢が小さい例では臓器未熟性から逆に肝 VOD の頻度が増す可能性も考えられる。そこで 2 例目においては、2010 年のアメリカ血液学会で Bu と CY の投与順序を逆転することで、肝 VOD の原因とされる化学物質の活性化 CY を減少させ、安定した生着を得ることができる

と報告された reversed CY-Bu regimen の有用性を検討することとした。末梢血 T 細胞分画の STR 法では、移植後早期に混合キメラを認めたものの、移植後 6 ヶ月で完全キメラとなり、移植後の経過も順調であった。酵素補充の主役である顆粒球系は移植後早期より 100%ドナータイプであり、移植の効果には影響しないものと考えられた。

E. 結論

ムコ多糖症に対する同種造血細胞移植は、前処置法の統一を含む標準化によって、より安全性の高い治療法となりうる。今後は長期フォローアップ体制の整備を行い、中枢神経系を含む全身的な改善の評価が必要である。

F. 健康危険情報

特記事項無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

1. Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Sukanuma E, Sugiyama N, Kato S and Yabe H. Alternative donor marrow transplantation in children with aplastic anemia using low-dose irradiation and fludarabine-based conditioning. Bone Marrow Transplant 18 October 2010 doi:10.1038/bmt.2010.241 [Epub ahead of print]
2. Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Arakawa S, Kato S and Yabe H. Therapy-related myelodysplastic syndrome of recipient origin in a juvenile myelomonocytic leukemia patient 17 years after allogeneic BMT. Bone Marrow Transplant 27 September 2010; doi:10.1038/bmt.2010.224
3. Tomita Y, Ishiguro H, Yasuda Y, Hyodo H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kojima S, Minemura T, Kato S. High incidence of fatty liver and insulin resistance in long-term adult survivors of childhood SCT. Bone Marrow Transplant.

2010 Jun 21. [Epub ahead of print]

4. Imaizumi M, Tawa A, Hanada R, Tsuchida M, Tabuchi K, Kigasawa H, Kobayashi R, Morimoto A, Nakayama H, Hamamoto K, Kudo K, Yabe H, Horibe K, Tsuchiya S, Tsukimoto I. Prospective study of a therapeutic regimen with all-trans retinoic acid and anthracyclines in combination of cytarabine in children with acute promyelocytic leukaemia: the Japanese childhood acute myeloid leukaemia cooperative study. *Br J Haematol* 2010 Aug 5 [Epub ahead of print]
5. Nabhan SK, Bitencourt M, Duval M, Abecasis M, Dufour C, Boudjedir K, Rocha V, Socie' G, Passweg J, Goi K, Sanders J, Snowden J, Yabe H, Pasquini R, Gluckman E. Fertility recovery and pregnancy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia patients. *Haematologica* 2010 95(10): 1783-1787.
6. Yabe H, Yabe M, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Kato S. Rapid improvement of life-threatening capillary leak syndrome after stem cell transplantation by bevacizumab. *Blood* 2010; 115(13): 2723-2724.
7. Yabe H, Koike T, Shimizu T, Ishiguro H, Morimoto T, Hyodo H, Akiba T, Kato S and Yabe M. Natural pregnancy and delivery after unrelated bone marrow transplantation using fludarabine-based regimen in a Fanconi anemia patient. *Int J Hematol* 2010; 91(2): 350-351.
8. 渡辺修大、足立壮一、堀部敬三、永利義久、加藤剛二、田淵 健、吉見礼美、加藤俊一、矢部普正、日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)SCT 委員会 小児急性骨髄性白血病第一寛解期での HLA 一致同胞間骨髄移植における GVHD 予防(MTX 単独 vs. CyA 群)の比較 *日本小児血液学会雑誌* 2010;24(1): 32-36.
9. 加藤陽子、羽田紘子、龍 彩香、田嶋朝子、矢野一郎、玉置尚司、伊藤文之、秋山政晴、星 順隆、金子隆、清水崇史、矢部みはる、矢部普正 軽症で7年間経過観察後最重症に進行し HLA1座不一致血縁ドナーより骨髄移植を施行した後天性特発性再生不良性貧血の1例 *日本小児血液学会雑誌* 2010;24(53): 53-58.

著書

1. 血液診療エキスパート;貧血 難治性貧血に対する fludarabine を前処置に用いた造血幹細胞移植 中外医学社 2010 231-234(共著)

2. 学会発表

国外

1. Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for Fanconi anemia. 22nd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. October, 2010, Minneapolis, USA
2. Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Long-term follow-up after unrelated bone marrow transplantation in a patient with dyskeratosis congenita. 22nd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. October, 2010, Minneapolis, USA
3. Yabe H, Ohara A, Bessyo F, Nakahata T, Kobayashi R, Tsuchida M, Ohga S, Kosaka Y, Mugishima H, Ito E, Morimoto A, Kojima S, on behalf of the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Comparison of three preparative regimens in alternative donor transplant for aplastic anemia in Japan. 36th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation 2010, Vienna, Austria.

国内

1. Yabe H, Yabe M, Kato S, Koike T, Takakura H, Hyodo H, Tomita Y, Ishiguro H, Shimizu T, Morimoto T and Akiba T. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. 第72回日本血液学会総会 2010年

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

濾紙血を用いてのライソゾーム病のスクリーニング法の開発

研究分担者 衛藤義勝 東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座

研究要旨

濾紙血を用いて今回はライソゾーム病の内ポンペ病の診断法の開発を行った。特に乳児型ポンペ病の新生児スクリーニングへの応用により早期診断、治療に結びつく。又筋ジストロフィー症などの施設でポンペ病が肢体型筋ジストロフィー症と誤診されている症例も本研究で明らかにした。又ポンペ病患者のスクリーニングを行った症例で明らかに α -グルコシダーゼ活性が低下をみられた症例で Pseudo deficiency の症例が日本人患者では多く、約 100 人に一人と高い頻度で認められたことから、ポンペ病患者の濾紙血の診断には Pseudo deficiency を遺伝子診断で鑑別する必要があることを明らかにした。

共同研究者

清水 寛子¹、嶋田洋太²、小林博司³、大橋十也、川井充⁴

¹東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座、²同 DNA 医学研究所遺伝子治療部門、³同小児科学講座、⁴独立行政法人東埼玉病院副院長&厚生労働省筋ジストロフィー研究班

A. 目的

Pompe 病はライソゾーム酵素である酸性 α -グルコシダーゼの欠損により進行性の筋力低下を呈する疾患である。発症年齢により乳児型と遅発型に分類され、乳児型は主に心筋障害をきたす。遅発型は進行の遅いミオパチー症状を呈し、小児期から成人後期に発症する。

日本では 2007 年にこの疾患に対する酵素が承認・薬価収載され、Pompe 病は現在治療可能な疾患である。スクリーニングは患者への侵襲性が少なく、検体輸送も簡便で第一選択検査としてはその利便性は高い。

今回は 3 年間で Pompe 病と診断した 10 例につ

いて濾紙血での活性値と最終診断の関連性、またその問題点などについて提言したい。

B. 研究方法

Pompe 病疑い症状のあった患者より濾紙血での酵素活性測定を行い、活性低下が認められた患者に対し培養皮膚線維芽細胞を用いての確定診断、遺伝子解析を施行した。

測定方法は、EDTA 加血を濾紙にスポットし、一晚乾燥させる。完全に乾燥したら常温郵送してもらい到着後は 4℃保存。検査は濾紙血を 3mm パンチでくり抜き、蒸留水で抽出する。この抽出液と人工気質、阻害剤を 96well マルチプレート内で 20 時間反応させ、反応停止バッファーを入れたあと、蛍光強度を測定、活性値を算出した。(Zhang et al, Genet Med, 2006)

C. 結果

自施設内での正常ボランティアから採血したコントロールをもとに 95 パーセントイルを計算し、カットオフ値を算出した。カットオフ値以下の患者を

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

再検し、再検後も低値だった者を培養皮膚線維芽細胞の確定診断対照者とした。抄録作成時、175 検体でのスクリーニング検査を終えており、Pompe 病患者 10 名を確定診断した。

D. 結論

濾紙血は検体採取・検体輸送が簡便で患者への侵襲性・採血量も少ない。

他の筋力低下疾患を疑った場合の Pompe 病鑑別診断としても必要血液量が少ないので有用である。確定診断は必須であるが、広く筋力低下の患者でスクリーニングが施行されれば Pompe 病が正しく診断され、酵素補充療法開始につながると思われる。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 学発表

1) 論文

1. Eto Y.: Single gene disorder: recent advances of research. *Nippon Rinsho*. 2010 Aug; 68 Suppl 8:117-28. Japanese.
2. Meng XL, Shen JS, Kawagoe S, Ohashi T, Brady RO, Eto Y.: Induced pluripotent stem cells derived from mouse models of lysosomal storage disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Apr 27;107(17):7886-91.
3. Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H.: Prognostic factors for the late onset Pompe disease with enzyme replacement therapy: from our experience of 4 cases including an autopsy case. *Mol Genet Metab*. 2010 May;100(1):14-9. Epub 2010 Feb 4.
4. Kyosen SO, Iizuka S, Kobayashi H, Kimura T, Fukuda T, Shen J, Shimada Y, Ida H, Eto Y,

Ohashi T.: Neonatal gene transfer using lentiviral vector for murine Pompe disease: long-term expression and glycogen reduction. *Gene Ther*. 2010 Apr;17(4):521-30. Epub 2009 Dec 24.

5. Sakurai Y, Suzuki R, Yoshida R, Kojima H, Watanabe M, Manome Y, Ohashi T, Eto Y, Moriyama H.: Inner ear pathology of alpha-galactosidase A deficient mice, a model of Fabry disease. *Auris Nasus Larynx*. 2010 Jun;37(3):274-80. Epub 2009 Nov 8.

6. Kobayashi H., Fujigasaki J., Fukuda T. et al. Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolipidosis type III alpha/beta suggesting autophagic dysfunction. *Mol.Genet. Metab*. 102 (2011) 170-175.

2) 学会発表

1. 小林博司、飯塚佐代子、有賀賢典、島田洋太、井田博幸、衛藤義勝、大橋十也：レンチウイルスベクターシステムを用いたクラッペ病の遺伝子治療（ポスター）日本小児科学会 2010.4.盛岡
2. 樋口 孝、清水 寛美、河越 しほ、福田 隆浩、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、平戸 徹、西野 勝哉、衛藤 義勝：MPSII 型 Knockout マウスでの脳室内酵素治療に関する研究 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
3. 有賀 賢典、小林 博司、飯塚 佐代子、金城 栄子、清水 寛美、衛藤 義勝、大橋 十也、井田 博幸：新生児 MPS VII マウスへの遺伝子治療におけるレンチウイルスベクターの長期発現 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
4. 大橋 十也、飯塚 佐代子、衛藤 義勝、嶋田 洋太、井田 博幸、小林 博司：抗 CD3

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

- 抗体によるポンペ病酵素補充療法での酵素製剤に対する免疫寛容導入 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
5. 嶋田 洋太、西山 由梨佳、小林 博司、衛藤 義勝、井田 博幸、大橋 十也：ポンペ病細胞におけるオートファジー活性化の分子機序 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
6. 河越 しほ、孟 興麗、嶋田 洋太、樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、井田 博幸、小林 博司、大橋 十也、衛藤 義勝：Pompe 病モデルマウスからの iPS 細胞の樹立と骨格筋細胞への分化誘導 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
7. 小林 正久、大橋 十也、井田 博幸、衛藤 義勝：日本人 Fabry 病家系の遺伝子変異についての研究 遺伝子変異と臨床病型について 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
8. 横井 貴之、小林 博司、衛藤 義勝、石毛 信之、北川 照男、大津 真、中内 啓光、大橋 十也、井田 博幸：ファブリー病モデルマウスに対する骨髄移植におけるキメリズムの決定 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
9. 小林 博司、飯塚 佐代子、福田 隆裕、岩本 武夫、有賀 賢典、嶋田 洋太、衛藤 義勝、井田 博幸、大橋 十也：レンチウイルスシステムを用いたクラッペ病モデルマウスに対する新生児遺伝子治療 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
10. 清水 寛美、嶋田 洋太、若林 太一、小林 博司、大橋 十也、井田 博幸、川井 充、衛藤 義勝：濾紙血を用いた Pompe 病スクリーニング法の有用性と問題点 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況
ムコ多糖II型への髄注

ライソゾーム病の新生児スクリーニング導入の妥当性について

研究分担者 掛江直子 国立成育医療研究センター成育政策科学研究部

研究要旨

ライソゾーム病(LSD)の中で、酵素補充療法や造血幹細胞移植が可能な疾患について、新生児マススクリーニング(NBS)への導入が検討されている。本研究では、諸外国での導入状況等について調査を行った。その結果、LSDのNBSへの導入については、米国、台湾、日本で導入が検討され、その一部がパイロット研究として進められていることが明らかになった。また、米国では、州ごとに異なる対象疾患でNBSが行われている現状があるが、その標準化のためにアメリカ臨床遺伝学会等で統一的なスクリーニング対象疾患パネルが作成されていること、そしてポンペ病、クラッペ病は2次的な対象疾患候補として検討されていることがわかった。欧州では、調べ得た範囲では、LSDのNBSへの導入の報告はなかった。NBS対象疾患は、世界の情勢を鑑みながら、我が国独自の基準を関連学会等で作成し、その基準に沿って選択していくことが重要であろう。

共同研究者

奥山虎之（国立成育医療研究センター・臨床検査部）

A. 研究目的

ライソゾーム病（以下、LSD）に対する酵素補充療法は、早期あるいは発症前から治療を開始することが効果的である。そのため、酵素治療が可能なLSDについて新生児マススクリーニング（以下、NBS）にて早期に発見し、治療を開始することにより酵素治療の効果を最大限に引き出すことが可能であると考えられる。

しかし、疾患タイプによっては、酵素補充療法の効果は限定的であり、生後早期の無症状の時期から治療を開始しても、知的障害などが進行する可能性は否定できない疾患もある。上記のことは、LSDが、NBSの標準的なクライテリアであるWilson-Jungner基準に厳密な意味において合致しないことを意味している。

本研究では、NBSの対象疾患の現状、LSDのNBS導入への可能性の2点について、諸外国の状況を調査分析し、わが国にLSDのNBSを導入する際に考慮すべき課題の提言を行うことを目的とする。

B. 研究方法

NBSの対象疾患の現状について、諸外国の専門家との意見交換の中からの情報提供等をもとに、諸外国においてホームページ等で公開されている資料や論文発表などを調査した。

C. 研究結果

1. NBSの対象疾患

NBSを採用しているすべての国で、フェニルケトン尿症（PKU）と先天性甲状腺機能低下症（CH）が対象疾患とされているが、その他の対象疾患については、国や地域によって大きなばらつきがある。タンデム質量分析装置（MS/MS）を用いたNBSは、以下の国で採用されていた。

〔MS/MSをNBSに採用している国〕：

米国、オーストリア、ベルギー、デンマーク、ドイツ、オランダ、ポーランド、ポルトガル、スペイン、スイス、英国、イスラエル、カタール、サウジアラビア、カナダ、コスタリカ、オーストラリア、ニュージーランド

最も多くの疾患を対象疾患としていたのは米国であったが、対象疾患は、州ごとに大きな差があった。米国臨床遺伝学会（ACMG）では、これらの対象疾患の標準化のためのパネルを作成し、29疾患をコア

パネルとして公表している。この中で、20 疾患が MS/MS での診断可能である。また、コアパネルには採用されていないが、NBS を考慮してもよい疾患として、25 疾患が、Secondary Target としてリストアップされている。

〔コアパネル 29 疾患〕：

ビオチンダーゼ (BIO)、先天性副腎過形成 (CAH)、
嚢胞性線維症 (CF)、先天性甲状腺機能低下症 (CH)、
古典的ガラクトース血症 (GALT)、鎌状赤血球症 (HB S/S)、S/C ヘモグロビン異常症 (HB S/C)、ベータサラセミア (HB S/A)、聴覚障害 (HEAR) 極長鎖アシル CoA デヒドロゲナーゼ欠損症 (VLCAD)、メチルマロン酸血症 (CBLA, B)、シトルリン血症 (CIT)、カルニチン転送障害 (CUD)、グルタル酸血症 (GA-1)、ホモシスチン尿症 (HCY)、3-ヒドロキシ 3 メチルグルタル酸尿症 (HMG)、イソバレリル酸尿症 (IVA)、長鎖ヒドロキシアシル CoA デヒドロゲナーゼ (LCHAD)、中鎖アシル CoA デヒドロゲナーゼ (MCAD)、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症 (3-MCC)、アルギノコハク酸尿症 (ASA)、ベータケトチオラーゼ欠損症 (BKT)、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症 (MCD)、メープルシロップ尿症 (MSUD)、メチルマロニル CoA ムターゼ欠損症 (MUD)、フェニルケトン尿症 (PKU)、プロピオン酸血症 (PROP)、三頭酵素欠損症 (TFP)、チロシン血症 I 型 (TRY-1)

2. LSD の NBS 導入の可能性について

NBS のパイロット研究は、米国、日本、台湾で進められている。対象疾患は、クラッペ病、ファブリ病、ポンペ病、ムコ多糖症 I 型、ムコ多糖症 II 型、ゴーシェ病である。クラッペ病を除く 5 疾患はいずれも酵素補充療法が導入されている疾患である。ACMG では、ポンペ病、クラッペ病についてコアパネル外の対象疾患候補としてのリストアップを検討している。ファブリ病については、NBS 対象疾患としての結論が出ていない。

D. 考察

NBS の対象疾患は、MS/MS の導入により、世界的に増加傾向にある。MS/MS で発見できる疾患は、アミノ酸、有機酸、脂肪酸代謝障害である。パイロット研究としては、LSD について、酵素補充療法が開始された疾患を中心に一部の国で検討が進んでいる。特に、ポンペ病は、発症前に診断し可及的速やかに酵素補充療法を開始することにより生命予後が著しく改善することが台湾において実施されているパイロット研究によっても示されている。また、米国でも Secondary Target としてのリストアップが検討されていることを鑑みると、日本においても早急に全国レベルでの導入に関する具体的な検討を進める必要があるであろう。

E. 結論

NBS 対象疾患は、諸外国の情勢を鑑みながら、我が国における科学的・倫理的観点からの議論を重ねつつ、関連学会等にて独自の基準を作成し、その基準に沿って選択していくことが求められるだろう。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

なし

